DOI:10.11931/guihaia.gxzw201709021

龙须藤叶粗提物的分离纯化及生物活性初探

姚宗理[1,2]，吴清来[1,2]，柯健[1,2]，黄冠[1,2]，杜晓英[1,2]，李俊凯[1,2*]
(1.长江大学农学院；2.长江大学农药研究所，湖北 荆州 434025）

摘要：龙须藤（*Bauhinia championii* Benth ）具有抗炎镇痛、消除自由基、抗菌、抗肿瘤等功效。为进一步拓宽龙须藤的生物活性研究，探索其不同组分潜在的杀菌和除草活性，课题组通过常温冷浸提取法提取、真空浓缩得到甲醇提取物。采用硅胶柱层析分离纯化，经 TLC 检识和碘缸熏蒸后整合，得到 9 个组分。反复重结晶 7 号和 8 号组分中析出的物质，经 TLC 检识和测熔点，得到 1 个纯化合物，编号 33 号，经波谱数据分析与 molbase 库对照，鉴定该化合物为(1R, 2S, 3S, 4S, 5S, 6S) - 6 - 甲氧基 - 1, 2, 3, 4, 5 - 环己烷五醇，是一种重要的工业原料。杀菌和除草活性试验结果显示，粗提物在 1000 μg•mL^{-1} 时对水稻稻瘟病菌的抑制率为 40.84±1.00%，对稗草根的抑制率为 49.18±2.33%；各组分在 500 μg•mL^{-1} 时，4 号组分对水稻稻瘟病菌的抑制率达到 44.19±0.76%, 2 号和 3 号组分对稗草根的抑制效果分别为 88.92±1.31%和 90.99±1.45%,3 号和 6 号组分对马齿苋根的抑制效果分别为 72.06±1.31%和 89.92±1.73%。结果表明龙须藤叶提取物对水稻稻瘟病菌、稗草根和马齿苋根有良好的抑制效果，可进一步分离 2 号、3 号、4 号、6 号组分，以期获得高活性的单体化合物。研究结果可为龙须藤作为新植物源农药的进一步研究与开发奠定基础。

关键词：龙须藤，生物活性，甲醇提取物，分离纯化，单体化合物

中图分类号：O629.2 ；S482.4　　　　文献标志码：　A　　　　文章编号：

Separation, Purification and Biological Activity of Crude Extract from *Bauhinia championii* Benth leaves

YAO Zong-li[1,2], WU Qing-lai[1,2], KE Jian[1,2],HUANG Guan[1,2],
DU Xiao-ying[1,2], Li Jun-kai[1,2*]
1. College of Agriculture, Yangtze University; 2. *Institute of Pesticide Research, Yangtze University*；Hubei, 434025, China

Abstract: *Bauhinia championii* Benth, a traditional Chinese herbal medicine, has effect on anti-inflammatory , analgesic, eliminate free radicals, anti-bacterial, anti-tumor and so on. In order to further broaden the potential fungicidal and herbicidal activity of different constituents of *Bauhinia championii* Benth, the research group attempt to dry and smash *Bauhinia championii* Benth leaves and use methanol to extract 3 times at normal temperature. Crude extract was isolated and purified on silica gel column chromatography. A bottle of fraction is collected every 200mL, according to the TLC detection and iodine cylinder integration, the crude extract was separated into 9 constituents. The precipitated material in constituents NO.7 and NO.8 were recrystallized repeatedly, Confirmed by pointing GF254 silica gel plate and measure the melting point , and geting 1 pure compound, named NO.33. based on analysised the data and compared with molbase library, this compound was identified as 1-D-4-O-methyl-myo-insitol, an important industrial raw material. The test results of fungicidal and herbicidal activity showed the crude

基金项目：国家自然科学基金项目(31672069) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 31672069)]。

作者简介：姚宗理（1991-），男，贺州人，在读硕士，从事植物源新农药的研究与开发，(E-mail）806032526@qq.com。

通信作者：李俊凯（1969-），男，博士，研究方向为新农药研究与开发，(E-mail）357115780@qq. com。

extract of *Bauhinia championii* Benth leaves to inhibition rate of *Pyricularia oryae* Cav was 40.84±1.00% at 1000 μg•mL^{-1} , and inhibition rate of *Echinochloa crusgalli* roots was 49.18±2.33%. When the constituents were at 500 μg•mL^{-1}, NO.4 constituent of *Pyricularia oryae* Cav inhibition rate reached 44.19±0.76%,inhibitory effects of No.2 and No.3 constituents on *Echinochloa crusgalli* roots were 88.92±1.31% and 90.99±1.45%, respectively; inhibitory effects of No.3 and No.6 constituents on *Portulaca oleracea* roots were 72.06±1.31% and 89.92±1.73%, respectively. The results show that the extract of *Bauhinia championii* Benth leaves have a certain amount of inhibitory effects on *Pyricularia oryae* Cav, *Echinochloa crusgalli* roots and *Portulaca oleracea* roots. In order to acquire high activity monomer compounds, the constituents of No.2, No.3, No.4 and No.6 can be further separated. The results can be used as the basis for further research and development of new plant source pesticides.

Keywords: *Bauhinia championii* Benth, Biological activity, Methanol extracts, Separation and purification, Monomer compounds

龙须藤（*Bauhinia championii* Benth ）又称九龙藤、梅花入骨丹、羊蹄藤、乌郎藤、过岗圆龙等，系双子叶植物豆科羊蹄甲属植物多年生藤（封锡志等，2010），分布于广东、湖南、湖北、江西、福建、浙江、贵州、广西等地，生长于海拔 200 米至 1000 米的地区（《全国中草药汇编》编写组，1996），含黄酮类（Frances et al, 1969; Vecchietti et al, 1979; Nonaka et al ,1982; Chen, et al, 1984; 张玉琴等，2013)、芳香酸类（白海云等，2004）、黄烷醇类（徐伟等，2009）、甾醇类（彭建宗等，2001; 白海云等，2005; 徐伟等，2013）、萜类（叶蕻芝等，2009）、糖类（汪艳娟等，2001; 蔡亮亮，2013）等，具有抗细菌（洪振丰等，2007)、抗炎镇痛（易荆丽 2012; Xu et al, 2013; Cai et al, 2013; 林丽微等，2014）、抗肿瘤（叶蕻芝等，2011）、消除自由基（高杰等，2011; 林炜鑫，2013）抗血小板凝集（胡娟等，2007）、治疗类风湿性关节炎（窦锡彬等，2006; 王柏灿，2008; 庞宇舟等，2013）、祛风除湿（江苏新医学院，1986）、治疗胃脘痛（黄耀奎等，2005）等功效，可用于治疗肠胃疾病（郭超勤等，2001）、风湿性关节炎和慢性腰腿痛（方鼎，1985；魏衡生等，1998; 黄兆胜，2003）等，是一种重要的中药材，但龙须藤周围极少有真菌和杂草生长，笔者推测可能在龙须藤中还有抑制真菌和杂草生长的活性化合物。课题组对龙须藤的甲醇提取物进行了初步的分离纯化、结构鉴定和生物活性测定，确定龙须藤叶具有一定的杀菌和除草活性。

1. 材料与方法

1.1 供试材料、试剂和仪器

1.1.1 供试材料

龙须藤叶，于 2017 年 2 月采自广西贺州市信都镇联盟村民黎山西北坡，由中科院武汉植物园江明喜研究员鉴定为豆科羊蹄甲属植物龙须藤(*Bauhinia championii* Benth)，样品室温阴干后粉碎备用。

1.1.2 供试菌种和杂草种子

水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)、番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、水稻稻瘟病菌(*Pyricularia oryae* Cav)等病原菌和油菜种子（*Brassica napus* seed）、稗草种子（*Echinochloa crusgalli* seed）、马齿苋种子（*Portulaca oleracea* seed）等供试植物种子由长江大学农学院植物保护教研组提供。

1.1.3 供试试剂

甲醇（AR）、吐温 80（CP）、石油醚（AR）、氯仿（AR）、乙酸乙酯（AR）、 N,N-二甲基甲酰胺（DMF，AR）、丙酮（AR），均为市售商品。

1.1.4 主要仪器

200-300 目硅胶（青岛谱科分离材料有限公司）；FA2004 电子天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；DLF-18 型流水式中药粉碎机（温州顶历医疗器械有限公司）；RE-52AA 型旋转蒸发器（上海亚荣生化仪器厂）；A-1000S 型水流抽气机（上海爱朗仪器有限公司）；ZF-Ⅰ型三用紫外分析仪（上海顾村电光仪器厂）；ES-315 型高压灭菌锅（TOMY KOGYO CO.,LTD）；SW-CJ-2FD 型洁净工作台（苏州安泰空气技术有限公司）；QT 型超声波清洗器（天津市瑞普电子仪器公司）； DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱（上海精宏实验设备有限公司）；SPX-250 型生化培养箱（上海跃进医疗器械有限公司）；BIC-400 型人工气候箱（上海博迅实业有限公司医疗设备厂）；Yanagimoto MFG.熔点测定仪（上海精密科学仪器有限公司，温度计未校正）；核磁共振仪(Bruker Avance DPX400，Bruker 公司）；傅立叶变换高分辨质谱仪（Bruker APEX IV，Bruker 公司）。

1.2 试验方法

1.2.1 粗提物的制备

参考文献方法（凌冰等，2008），在室温下，将阴干的龙须藤叶片用流水式中药粉碎机粉碎，过 60 目标准筛，取 300.00 g 过筛的叶片粉末用 95%甲醇常温浸提 3 次，料液比为 1:10，浸提时间依次为 5 d, 3 d, 1 d, 合并提取液，用旋转蒸发仪 50℃减压浓缩，回收甲醇，获得甲醇粗提物浸膏。

1.2.2 分离纯化

取粗提物 50.00 g，用少量甲醇热熔后，与 50.00 g 硅胶(200-300 目)充分拌匀、晾干，装入硅胶层析柱(6.00 cm×80.00 cm，200-300 目硅胶 400.00 g)，依次用乙酸乙酯:石油醚(0: 1-1:0)、100%乙酸乙醋、氯仿:甲醇(0: 1-1:0)和 100%甲醇进行梯度洗脱，各梯度溶剂为 3000 ml，每 200 ml 为 1 个组分收集洗脱液， 50℃减压浓缩，GF254 薄层层析硅胶板展开， 254 nm 紫外荧光仪下检识或碘缸显色，合并 Rf 值相同的组分，获得 9 个组分。对 7 号和 8 号组分中析出的物质，少量甲醇热熔，反复重结晶，TLC 检识合和熔点测定，获取纯化合物。

1.2.3 药液的配置

分别称取 0.50 g 龙须藤叶粗提物和 0.25 g 各组分于 15 mL 棕色样品瓶中，用丙酮并用超声波清洗器助溶，在超净工作台中用含 0.1%吐温 80 的无菌去离子水定容至 50 mL，粗提物配成 10000 μg•mL^{-1} 溶液，各组分配成 5000 μg•mL^{-1} 溶液，用于杀菌和除草活性测定。

1.2.4 杀菌活性试验

采用离体平皿培养法（陈小霞等，2007），用 PDA 培养基，以供试病原菌为对象，对所浸提的粗提物进行杀菌活性测定，培养基中供试提取物组分浓度为 1000 μg•mL^{-1}。接上病原菌菌饼后于 28 ℃生化培养箱中培养，同时以等量的丙酮和含 0.1%吐温 80 的无菌去离子水作为对照，每处理重复 3 次。当对照组的菌落长至培养皿底部 3/4 面积后用十字交叉法（张建宁，2015）测量菌落直径，通过以下公式计算抑制率。

$$\text{菌落生长抑制率}\% = \frac{\text{对照组菌落生长直径} - \text{处理组菌落生长直径}}{\text{对照组菌落生长直径}}$$

1.2.5 除草活性试验

用种子生物测定法（徐江艳，2013），将供试种子催芽后挑选发芽势相同的种子放于铺有中速滤纸的 90 mm 培养皿内，每皿 15 粒，每皿加药液 5 ml。以等量的丙酮和含 0.1%吐温-80 的无菌去离子水作为对照，每处理重复 3 次，置于人工气候箱内培养，设置温度 28℃，

湿度 80% rH，光照度 1100 lux，光照时间为 14 h/d，培养 4-5 d 后测量根长和芽长，计算相对抑制率。

$$根(茎)生长抑制率\% = \frac{对照组根(茎)长度 - 处理组根(茎)长E}{对照组根(茎)长度}$$

2． 结果与分析

2.1 粗提物的提取率与分离纯化

采用上述提取方法，300.00 g 龙须藤叶浸提得到 85.73 g 膏状物，提取率为 28.58%。根据文献报道（马力，2010），影响提取率的因素可能与溶剂浓度、提取时间、提取次数、提取温度及植物生长时期有关。50.00 g 经硅胶柱层析分离后共回收样品 30.71 g，回收率 61.42%，结果见表 1。影响回收率的因素可能跟层析柱的种类、样品的极性、过柱时间有关。

表 1　龙须藤各组分的质量和比例

Table 1　Quality and proportion of each component of *Bauhinia championii* Benth

组分编号 Component number	重量/g Quality / g	在粗提物中的比例 / % The proportion in crude extract / %	洗脱液的种类和比例 The type and proportion of the eluent
1	8.54	27.81	乙酸乙酯：石油醚=1:10-1:8 ethyl acetate:petroleum ether=1:10-1:8
2	0.72	2.34	乙酸乙酯：石油醚=1:7-1:6 ethyl acetate:petroleum ether=1:7-1:6
3	1.08	3.52	乙酸乙酯：石油醚=1:5-1:4 ethyl acetate:petroleum ether=1:5-1:4
4	3.44	11.2	乙酸乙酯：石油醚=1:3-1:1 ethyl acetate:petroleum ether=1:3-1:1
5	2.99	9.74	乙酸乙酯：石油醚=1:0 ethyl acetate:petroleum ether=1:0
6	2.27	7.39	甲醇：氯仿=1:10-1:8 methanol:chloroform=1:10-1:8
7	3.96	12.89	甲醇：氯仿=1:7-1:4 methanol:chloroform=1:7-1:4
33	0.96	7.45	甲醇：氯仿=1:4-1:3 methanol:chloroform=1:4-1:3
8	1.42	4.62	甲醇：氯仿=1:3-1:2 methanol:chloroform=1:3-1:2
9	5.33	17.36	甲醇：氯仿=1:1-1:0 methanol:chloroform=1:1-1:0

2.2　纯化合物结构鉴定

经过反复重结晶获得的化合物的波谱数据如下：

化合物 33　白色固体; m.p. 182.5 - 183.3℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d): δ 9.01 (s, 1H), 7.94 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 7.14 (d, J = 16.8 Hz, 2H), 6.32 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 5.39 (s, 1H), 5.15 (dd, J = 4.4, 5.2 Hz, 2H), 4.93 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.67 （t = 10.8 Hz, 1H） ,3.76-3.73(m, 1H),

3.50-3.44(m, 1H). ^{13}CNMR (400 MHz, DMSO-d): 84.24, 73.04, 72.86, 72.41, 71.34, 70.52, 60.13. HRMS 计算值 $C_7H_{14}O_6$, $[M-H]^-$ ：193.0716, 实测值 193.0718。经波谱数据分析与 molbase 库对照，鉴定该化合物为(1R, 2S, 3S, 4S, 5S, 6S) - 6 - 甲氧基 - 1, 2, 3, 4, 5 - 环己烷五醇。该化合物为工业重要原料。

2.3 杀菌活性试验结果

测定了甲醇粗提物（1000 μg•mL^{-1}）、化合物 33（500 μg•mL^{-1}）以及 9 个柱层析组分（500 μg•mL^{-1}）对供试病原菌的生物活性，结果见表 2。结果表明，龙须藤粗提物对部分供试病原菌有一定的抑制效果，对水稻稻瘟病菌的抑制率最佳，达到 40.84±1.00%；将提取物按照极性从小到大分成的 9 个组分中，4 号组分对所有的供试病原菌都有一定的抑制活性，对水稻纹枯病菌和水稻稻瘟病菌的抑制效果最佳，分别达到 36.26±0.76%和 44.19±0.76%，可初步确定有杀菌活性的成分集中在该组分。

表 2 龙须藤叶粗提物和各组分的杀菌活性

Table 2 Fungicidal activity of crude extract and components of *Bauhinia championii* Benth leaves

组分编号 Component number	抑制率 Inhibition rate/%					
	水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*	油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*	小麦赤霉病菌 *Fusarium graminearum*	西瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*	番茄早疫病菌 *Alternaria solani*	水稻稻瘟病菌 *Pyricularia oryae* Cav
粗提物 Crude extract	0.00±0.00	0.00±0.00	13.03±1.24	0.00±0.00	0.74±1.41	40.84±1.00
1	4.09±1.07	12.12±1.08	8.90±0.76	5.96±0.76	0.00±0.00	2.33±0.05
2	0.00±0.00	0.00±0.00	9.10±1.44	0.00±0.00	0.00±0.00	1.67±1.07
3	26.89±1.24	6.06±0.76	6.59±0.76	5.29±0.76	0.73±1.00	15.58±0.76
4	36.26±0.76	16.67±1.24	10.45±0.76	11.03±0.76	15.44±1.70	44.19±0.76
5	21.78±1.24	0.00±0.00	0.00±0.00	1.24±0.76	3.81±1.44	31.48±1.00
6	2.33±1.44	12.12±1.24	24.71±1.24	7.95±0.76	2.93±0.05	12.33±0.76
7	14.92±1.24	0.00±0.00	6.41±1.31	5.38±0.76	4.59±1.24	6.00±1.24
33	9.08±1.24	16.23±0.76	10.39±1.24	0.00±0.00	2.71±1.00	2.36±1.24
8	17.53±0.76	2.56±1.41	5.69±0.76	0.00±0.00	12.70±1.24	4.84±0.76
9	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	6.83±0.76	3.81±0.76	0.00±0.00

注：因样品溶解性问题，组分 3、5、9 的溶样溶剂更换为 1 mL DMF。

Note: Due to problems of sample solubility, the solvent of components 3, 5, 9 was changed to 1 mL of DMF.

2.4 除草活性试验结果

用种子生物测定法将供试种子催芽后挑选发芽势相同的种子进行除草活性测定，测量其根、芽生长指标，计算相对抑制率，结果列于表 3。结果表明，龙须藤粗提物对所有供试种子根长都有抑制效果，对稗草根的抑制率最佳，达到 49.18±2.33%， 2 号和 3 号组分对稗草根的抑制效果最好，分别达到 88.92±1.31%和 90.99±1.45%；3 号和 6 号组分对马齿苋根抑制效果最好，分别达到 72.06±1.31% 和 89.92±1.73%。可初步确定具有除草活性的成分主要集中在 2 号、3 号和 6 号组分中。

表 3 龙须藤叶粗提物和各组分的除草活性

Table 3 Herbicidal activity of crude extract and components of *Bauhinia championii* Benth leaves

组分编号 Component number	抑制率 Inhibition rate/%					
	油菜根 *Brassica napus* roots	油菜芽 *Brassica napus* buds	稗草根 *Echinochloa crusgalli* roots	稗草芽 *Echinochloa crusgalli* buds	马齿苋根 *Portulaca oleracea* roots	马齿苋芽 *Portulaca oleracea* buds
粗提物 Crude extract	13.78±2.87	0.00±0.00	49.18±2.33	0.00±0.00	12.41±1.92	0.00±0.00
1	27.19±4.11	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	60.40±2.03	0.00±0.00
2	23.95±4.54	0.00±0.00	88.92±1.31	50.60±2.60	38.21±2.06	28.48±1.37
3	22.04±4.01	0.00±0.00	90.99±1.45	56.28±2.69	72.06±1.31	50.00±0.95
4	26.48±4.18	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	63.65±1.85	24.95±1.51
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	23.43±1.66	0.00±0.00
6	32.62±3.92	9.58±2.21	0.26±3.53	0.00±0.00	89.92±1.73	50.13±1.03
7	8.22±3.89	11.43±4.84	0.00±0.00	2.81±2.63	0.00±0.00	2.11±1.54
33	5.88±5.12	5.20±1.92	0.00±0.00	1.47±2.43	0.00±0.00	4.30±1.55
8	17.41±4.84	2.90±1.72	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
9	12.76±3.11	0.00±0.00	0.00±0.00	13.48±2.69	52.20±1.70	0.00±0.00

注：因样品溶解性问题，组分 3、5、9 的溶样溶剂更换为 1 mL DMF。

Note: Due to problems of sample solubility, the solvent of the components 3, 5, 9 was changed to 1 mL of DMF.

3. 结论与讨论

龙须藤具有广泛的医药活性，目前主要集中在抗细菌（洪振丰等，2007）、抗炎镇痛（易荆丽 2012; Xu et al, 2013; Cai et al, 2013; 林丽微等，2014）、抗肿瘤（叶蕻芝等，2011）、消除自由基（高杰等，2011; 林炜鑫，2013）和抗凝血（夏俊伟等，2016）等，在抗真菌和除草活性的研究却鲜有报道。本研究首次对龙须藤叶粗提物的进行常见作物病原菌和除草活性测定，结果表明龙须藤叶粗提物对水稻稻瘟病菌菌丝生长和稗草萌芽都具有良好的抑制效果。为进一步锁定粗提物的活性成分，对龙须藤叶粗提物进行了柱层析分离纯化，根据洗脱溶剂极性分段收集，经 TLC 检识和碘缸熏蒸后整合得到 9 个组分和 1 个纯化合物，经波普数据分析与 molbase 库对照，鉴定该化合物为(1R,2S,3S,4S,5S,6S)-6-甲氧基-1,2,3,4,5-环己烷五醇，该化合物是一种重要的工业原料。通过对分段收集的 9 个组分抗真菌和除草活性测定，结果表明所有组分均具有杀菌活性，其中 4 号组分对水稻稻瘟病菌的抑制效果最好，说明具有最佳杀菌活性的化合物集中在该组分，且该化合物对水稻稻瘟病菌所在属的其他致病菌可能也有相当的抑制作用，有待进一步研究。2 号和 3 号组分对稗草根的抑制效果最好，具有开发成针对单子叶杂草除草剂的潜能；3 号组分对马齿苋根同样表现出良好的抑制效果，说明 3 号组分对单子叶植物和双子叶植物杂草均具有良好的抑制效果，具有开发成广谱性除草剂的潜能；6 号组分组分对马齿苋根的抑制效果最好，具有开发成针对双子叶杂草除草剂的潜能。

本研究初步锁定了高活性化合物所在组分，结果表明龙须藤叶提取物对水稻稻瘟病菌、稗草根和马齿苋根有良好的抑制效果，后期工作可对 2 号、3 号、4 号和 6 号三个组分进一步分离纯化，并通过结构鉴定和生物活性测定获得高活性的单体化合物。研究结果可为龙须藤作为新植物源农药的进一步研究与开发奠定基础。

参考文献

BAI HY, ZHAN QF, LAO AN, et al, 2005. Studies on the chemical constituents of *Bauhinia*

championii Benth (Ⅰ) [J]. Chin J Chin Mater Med, 30 (1) : 42-43. [白海云，詹庆丰，劳爱娜，等, 2005. 九龙藤化学成分研究(Ⅰ) [J]. 中国中药杂志, 30(1) : 42-43.]

BAI HY, ZHAN QF, XIA ZH, et al, 2004. Studies on the chemical constituents of *Bauhinia championii* Benth (Ⅱ) [J]. Nat Prod Res Dev, (4) : 312-313. [白海云，詹庆丰，夏增华，等, 2004. 九龙藤化学成分研究(Ⅱ) [J]. 天然产物研究与开发, (4) : 312-313.]

CHEN CC, CHEN YP, SU HY, et al, 1984. New flavones from *Bauhinia championii* Benth [J]. Chem Pharm Bull, 32(5) : 166-169.

CAI LL, 2013. Research on extraction, purification and activities against chondrocyte of polysaccharides from *Bauhinia championii* Benth [D]. Fuzhou: FuJian University of Traditional Chinese Medicine. [蔡亮亮, 2013. 龙须藤多糖提取纯化及其对软骨细胞活性的影响 [D]. 福州: 福建中医药大学.]

CAI LL, YE HZ, YU FR, et al, 2013. Effects of *Bauhinia championii* Benth. Polysaccharideson the proliferation and cell cycle of chondrocytes [J]. Mol Med Kep, 7(12) : 1624-1630.

CHEN XX, YUAN HZ, QIN ZH, et al, 2007. Prelininary studies on antifungal activity of *Pyrimorph* [J]. Chin J Pestic Sci, 9(3) : 229-234. [陈小霞，袁会珠，覃兆海，等, 2007. 新型杀菌剂丁吡吗啉的生物活性及效果方式初探 [J]. 农药学学报, 9(3) : 229-234.]

DOU XB, LI FZ, TAN SC, et al, 2006. Zhuang integrated medical treatment of *Rheumatoid arthritis* 37 cases [J]. Guangxi J Tradit Chin Med, 29 (2) : 45-46. [窦锡彬，李凤珍，谭树聪，等, 2006. 壮医综合治疗类风湿性关节炎 37 例 [J]. 广西中医药, 29(2) : 45-46.]

FANG D, 1985. Zhuang folk Prescription [M]. Nanning: Guangxi Nationalities Press. [方鼎, 1985. 壮族民间用药选方 [M]. 南宁: 广西民族出版社, 293.]

FENG XZ, XU SX, LI W, et al, 2000. A new flavonoid from *Ixeris sonchifolia* Hance(II) [J]. Chin J Med Chem, 10 (2) : 143-144. [封锡志，徐绥绪，李文，等, 2000. 苦碟子中的新黄酮苷(Ⅱ) [J]. 中国药物化学杂志, 10(2) : 143-144.]

FRANCES DH ＆ MARGARET KS, 1969. Lignans of *Ulmus thomashii* heartwood-II. lignans related to thomasic acid [J]. Tetrahedron, 25(5) : 2325.

GAO J, LIN WX, ZHONG YY, et al, 2011. Study of the ethyl acetate extract from stem of *Champion bauhinia* on scavenging free radicals, analgesia and anti - inflammatory effects [J]. J Anhui Agric Sci, 39 (36) : 22305-22306. [高杰，林炜鑫，钟屿云，等, 2011. 九龙藤乙酸乙酯提取物清除自由基、镇痛抗炎效果研究 [J]. 安徽农业科学, 39 (36) : 22305-22306.]

GUO CQ ＆ XIANG LM, 2001. Treatment of acute and chronic low back pain with *Championii bauhiniac* Benth [J]. China's Naturopathy, 9 (10) : 61. [郭超勤和相鲁闽, 2001. 羊蹄藤治疗急慢性腰腿痛[J]. 中国民间疗法, 9(10) : 61.]

HONG ZF, ZHENG HY, XU W, et al, 2007. An experimental study on the anti - inflammatory and analgesic effects of kang beauty skin [J]. Chin J Tradit Med Sci Tech, 14 (6) : 410-411. [洪振丰，郑海音，徐伟，等, 2007. 康美肤烧伤膏抗炎、镇痛效果的实验研究 [J]. 中国中医药科技, 14(6) : 410-411.]

HU J, YE HZ, FENG Y, et al, 2007. Quality control on the effective parts in complex *Dahuang* peritoneal dialysis solution [J]. J Fujian Coll Tradit Chin Med, 17 (3) : 90. [胡娟，叶蕻芝，冯亚，等, 2007. 3 种闽产中药体外对大鼠血小板聚集的影响 [J]. 福建中医学院学报, 17(3) : 90.]

HUANG ZS, 2003. Anti - rheumatism Chinese herbal medicine and prescription [M]. Fuzhou: Fujian Mechanics and Technology Press: 116. [黄兆胜, 2003. 抗风湿中草药与验方 [M]. 福州: 福建力学技术出版社: 116.]

HUANG YK, HUANG ZM, HUANG XM, 2005. A study on the effect of zhuang 's "*White tiger bile stupid asthma*" in treating [C]. 2005 national first zhuang medicine academic conference and national symposium on national medicine experience. Nanning: 196-197. [黄耀奎，黄忠明，黄新梅, 2005. 壮医“白虎胆胃舒散”治疗胃腕痛效验 [C]. 全国首届壮医药学术会议暨全国民族医药经验交流会论文汇编. 南宁: 196-197.]

HUANG BC, 2008. Observation on curative effect of 46 cases of rheumatoid arthritis treated by *Acupuncture point* [J]. J Sichuan Tradit Chin Med, 26 (8) : 112-113. [王柏灿, 2008. 壮医穴位点按加熨浴疗法治疗类风湿性关节炎 46 例疗效观察 [J]. 四川中医, 26(8) : 112-113.]

Jiangsu New Medical College, 1986. Dictionary of Chinese medicine [M]. Shanghai: Shanghai mechanics and technology press: 13. [江苏新医学院, 1986. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海力学技术出版社: 13.]

LING B, WANG GC, ZHA J, et al， 2008. Studies on antifeeding activity and active ingredients against plutella xylostella from *Momordica charantia* leaves [J]. Sci Agric Sin, 41 (10): 3116-3122. [凌冰，王国才，轧霁，等, 2008. 苦瓜叶提取物对小菜蛾的拒食活性及有效成分研究 [J]. 中国农业科学, 41 (10) : 3116-3122.]

LIN WX, 2013. The studies on purification of total flavonoids and anti-oxidative damage on cadiocytes of *Bauhinia championii* flavones [D]. Guilin: Guilin Medical University. [林炜鑫, 2013. 九龙藤总黄酮的提取纯化及抗心肌氧化损伤效果 [D]. 桂林: 桂林医学院.]

LIN LW, ZHOU YS, ZHOU Z, et al, 2014. Anti-inflammatory effect of total flavones from *Bauhinia championii* on the rat model of knee osteoarthritis [J]. J Guangdong Coll Pharm, 30 (5) : 608-611. [林丽微，周毅生，周臻，等, 2014. 龙须藤总黄酮对膝关节炎模型大鼠的抗炎效果 [J]. 广东药学院学报, 30(5) : 608-611.]

MA L, 2010. Extraction technics of total coumarins from the leaf of *Fraxinus Hupehensis* [J]. Her Med, 29(7) : 925-928. [马力, 2010. 对节白蜡叶中总香豆素提取工艺研究 [J]. 医药导报 29(7) : 925-928.]

"National Chinese Herbal Medicine Compilation" writing group, 1996. National compilation of Chinese herbal medicine (Volume 1) [M]. Beijing: People's Health Press: 261-265. [《全国中草药汇编》编写组, 1996. 全国中草药汇编(上册) [M]. 北京：人民卫生出版社: 261-265.]

NONAKA G, NISHINM MH, NISHIOKA I, 1982. Tannins and relatcd compounds IV. Sevn new phenol gtucoside gallates from *Quercus stenophylla* Makino(1) [J]. Cham Pharm Bulll, 30(6) : 2061-2067.

PENG JZ & CHEN ZP, 2001. Purification and characterization of lectin form *Bauhinia championii* Benth [J]. J Trop Bot, 9 (2) : 133-137.

PANG YZ, XING SS, FANG G, et al, 2013. Clinical observation on treatment of *Rheumatoid arthritis* with Zhuanghuang Longtong Tongbi Decoction [J]. J Med & pharm Chin minor, 1 (1) : 1-2. [庞宇舟，邢沙沙，方刚，等, 2013. 壮药龙钻通痹方治疗类风湿关节炎的临床观察 [J]. 中国民族医药杂志, 1(1) :1-2.]

VECCHIETTI V, FERRARI G, ORSINI F, et al, 1979. Alkaloid and lignin constituents of *Cinnamosma madaga scaricnsis* [J]. Phytochemistry, 18(5) : 1847-1849.

WANG YJ, ZHU QQ, YE HZ, et al, 2011. Study on microwave extraction of polysaccharides from *Bauhinia Championii* Benth [J]. Anal and Test Tech Instrum, 7 (2) : 92-95. [汪艳娟，朱倩倩，叶蕻芝，等, 2011. 微波提取龙须藤多糖的最佳条件研究 [J]. 分析测定技术与仪器, 7(2) : 92-95.]

WEI HS & QI ZY, 1998. Observation on curative effect of 58 cases of treating [J]. J Ext Ther

Tradit Chin Med, 98 (1) : 41-42. [魏衡生和祁芝云, 1998. 熏蒸治疗痹证 58 例疗效观察 [J]. 中医外治杂志, 7(1) : 41-42.]

XU W, ZHENG HY, HONG ZF, et al, 2009. RP-HPLC determination of four flavonols in *Bauhinia championii* Benth [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 26 (3) : 166-169. [徐伟, 郑海音, 洪振丰, 等, 2009. RP-HPLC 测定龙须藤中 4 种黄酮类成分的含量 [J]. 中国现代应用药学学报, 26(3) :166-169.]

XU W, CHU KD, LI L, et al, 2013. *Bauhinia championii* extraction treatment of collagen-induced arthritis via downregulation of the expression of TLR4, MyD88 and NF-kB [J]. Am J Chin Med, 4(2) : 379-390.

XU JY, 2013. Study on the resistance of *Echinochloa crusgalli* var.zelayensis to quinclrac in paddy rice [M] : Nanjing Agricultural University. [徐江艳, 2013. 稻田西来稗(*Echinochloa crusgalli* Var. *zelayensis*)对二氯喹琳酸的抗药性及其机理研究 [D]. 南京: 南京农业大学.]

XU W, LI H, CHU KD, et al, 2013. Studies on chemical constituents of *Bauhinia championii*(Benth.)Benth [J]. Nat Prod Res Dev, 25 (12) : 1209-1211. [徐伟, 李煌, 褚克丹, 等, 2013. 龙须藤的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 25(12) : 1209-1211.]

YE HZ, ZHENG CS, LIN W, et al, 2009. Component analysis of essential oil from *Centipeda minima* of Fujian province by GC-MS [J]. J Fujian Coll Tradit Chin Med, 19 (5) : 20-22. [叶蕻芝, 郑春松, 林薇, 等, 2009. 气相色谱一质谱联用技术分析梅花入骨丹挥发油的化学成分[J]. 福建中医学院学报, 19(5) : 20-22.]

YE HZ, CHEN J S, LI X M, 2011. Effect of polysaccharide in *Bauhinia championi* (Benth.) Benth on activity of SW1353 Cells [J]. J Fujian Coll Tradit Chin Med, 21 (6) : 32-34. [叶蕻芝, 陈加守, 李西海, 2011. 梅花入骨丹多糖对 SW1353 软骨肉瘤细胞活性的影响 [J]. 福建中医学院学报, 21(6) : 32-34.]

YI JL, ZHANG JJ, ZHOU YS, et al, 2012. Study on the anti-inflammatory and analgesic effects of *Bauhinia championii* Benth extract in mice [J]. J Guangdong Coll Pharm, 28 (6) : 1-5. [易荆丽, 张嘉家, 周毅生, 等, 2012. 龙须藤提取物的镇痛抗炎效果 [J]. 广东药学院学报, 28(6) :1-5.]

ZHANG YQ, 2013. Study on material foundation of anti-rheumatoid arthritis efficacy and mechanism of *Bauhinia championii* Benth [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine. [张玉琴, 2013. 龙须藤抗类风湿关节炎的药效化合物基础及效果机制研究 [D]. 福州: 福建中医药大学.]

ZHANG JN, 2015. Crossing method measure inhibitory effect of *Verticillium wilt* of *Cotton* [J]. Prim Agric Tech Ext, 3(11) : 26-31. [张建宁, 2015. 十字交叉法测定药剂对棉花黄萎病菌的抑制效果 [J]. 基层农技推广, 3(11) : 26-31.]